Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts München
Direktor: Professor Dr. Philipp Broemser.

Ueber die Hemmung der Milchsäurebildung in der Zelle durch Sauerstoff

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Hans Heiting
aus Grevenbroich

München 1938

Dissertations-Druckerei Heinr. & J. Lechte, Emsdetten (Westf.)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554005_0147

Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts München
Direktor: Professor Dr. Philipp Broemser.

Ueber die Hemmung der Milchsäurebildung in der Zelle durch Sauerstoff

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Hans Heiting
aus Grevenbroich

München 1938

Dissertations-Druckerei Heinr. & J. Lechte, Emsdetten (Westf.)

Vorstand der physiologisch-chemischen Abteilung:
Professor Dr. phil. et med. A. Hahn.

Referent: Prof. Dr. Ph. Broemser.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Meinen Pflegeeltern

Ueber die Hemmung der Milchsäurebildung in der Zelle durch Sauerstoff.

Der tätige Muskel nimmt bekanntlich einen Teil seiner Kraft aus den Glykogenvorräten des Körpers. Dabei wird das Glykogen über Lactacidogen bis zur Milchsäure gespalten[1]. Bis hierher erfolgt diese Reaktion anoxybiotisch, also ohne Aufnahme von Sauerstoff. Bei Gegenwart von Sauerstoff fand Warburg sogar eine Hemmung der Milchsäurebildung. Meyerhof wies nach, daß bei der Erholung des Muskels ein Teil der Milchsäure unter Aufnahme von Sauerstoff vollständig verbrennt zu Kohlendioxyd und Wasser, während ein anderer Teil mit Hilfe der so gewonnenen Energie wieder zu Traubenzucker bzw. zu Glykogen resynthetisiert wird. Damit fand die Beobachtung Warburg's ihre Erklärung.

Meyerhof stellte weiterhin fest, daß ungefähr $^4/_5$ der glykolytisch entstandenen Milchsäure wieder zu Glykogen aufgebaut wird, während das letzte Fünftel vollständig verbrennt[2].

Bei Versuchen fanden Hahn, Fischbach und Niemer[3], daß im Muskelbrei bei Gegenwart von Sauerstoff überhaupt keine Milchsäure gebildet wird, d. h. die Menge der anfangs vorhandenen Milchsäure blieb bei Gegenwart von Sauerstoff streng konstant. Auch nahmen bei Gegenwart von Sauerstoff niemals die Kohlehydrate des Muskelbreies zu, während man bei der Erholung des intakten Muskels stets eine Zunahme der Kohlehydrate fand entsprechend der Resynthese Meyerhof's.

Hahn, Belmonte und Niemer[4] bewiesen in weiteren Versuchen, daß die Resynthese von Milchsäure zu Glykogen streng mit der erhaltenen Struktur des Muskels verknüpft ist. Aus der folgenden Tabelle erkennt man, wie die Bildung von Kohlehydraten aus Milchsäure bei nur einmaliger querer Durchschneidung des Muskels auf beinahe ein Achtel gegen der des intakten Muskels abgesunken ist. Längszerschneidung hat keinen nennenswerten Einfluß.

Die Kohlehydrathbestimmungen der folgenden Tabelle machte man nach dreistündiger Digestion bei 37° in Ringerlösung, die in den Versuchen mit Laktat einen Gehalt von 0,5 % Lithiumlaktat hatte.

Tabelle 1

(mg Kohlehydrat.)

Unzerschnitten			Querzerschnitten			Längszerschnitten		
Ohne Laktat	Mit Laktat	Kohlehydratvermehrung mit Laktat	Ohne Laktat	Mit Laktat	Kohlehydratvermehrung mit Laktat	Ohne Laktat	Mit Laktat	Kohlehydratvermehrung mit Laktat
16,6	18,5	1,9	11,8	11,8	0,0	11,1	15,6	4,5
20,3	22,4	2,1	13,0	13,2	0,2	13,2	14,5	1,3
15,5	18,8	3,3	10,9	11,0	0,1	15,2	15,7	0,5
13,6	16,9	3,3	12,5	12,7	0,2	12,1	13,4	1,3
24,6	25,8	1,2	6,8	6,8	0,0	13,1	17,7	4,6
20,0	21,6	1,6	9,8	10,6	0,8	19,0	19,3	0,3
20,3	23,1	2,8	9,9	10,3	0,4	17,2	18,1	1,1
17,1	20,6	3,5	11,7	12,3	0,5	12,5	19,9	7,4
18,3	19,3	1,2	14,8	15,3	0,5	13,6	18,3	4,7
12,5	13,9	1,4	17,1	17,2	0,1	17,1	19,2	2,1
18,7	20,6	2,9	13,1	14,4	1,3			
19,6	21,6	2,0	14,4	14,4	0,0			
21,5	25,2	3,7	10,8	11,1	0,3			
17,6	21,8	4,2	12,1	11,0	—1,1			
17,3	19,6	2,3	14,7	15,0	0,3			
13,8	17,5	3,7	13,0	14,7	1,7			
16,3	17,8	1,5	13,2	12,8	—0,4			
16,7	19,6	2,9	4,5	5,6	1,1			
12,6	16,1	3,5	12,7	12,7	0,0			
11,0	14,9	3,9	9,0	8,2	—0,8			
14,1	16,4	2,3	8,6	10,1	1,5			
9,3	14,1	4,8	8,6	9,2	0,6			
14,0	15,3	1,3	13,1	14,0	0,9			
			10,5	10,7	0,2			
Mittelwert: 2,62					0,35	Mittelwert: 2,78		

Bei der weiteren Verfolgung der Ergebnisse bewiesen Hahn und Niemer[5], daß ein oder mehrere heute noch unbekannte Stoffe die Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff im Muskelbrei verursachen. Sie verwandten dabei ganz frischen Rindsmuskel, der mittels einer Fleischmaschine zerkleinert wurde.

Die folgende Versuchsanordnung gilt auch für meine Versuche.

Den Rindsmuskelbrei schüttelt man dabei mit der doppelten Gewichtsmenge Phosphatpuffer (p H = 7; m/15) ¾ Stunden auf der Schüttelmaschine. Die Waschflüssigkeit, mit Waschsaft bezeichnet, filtriert man ab und den Muskelrückstand preßt man in einer Fruchtpresse scharf aus. Zu je einer Versuchsserie verwendet man je 5 g. ausgepreßten Muskel und 25 ccm Waschsaft in 3 sehr großen Reagenzgläsern (285/35). Im ersten Reagenzglas, im sogenannten Nullversuch, bestimmt man die zu Versuchsbeginn vorhandene Milchsäure, während man in den beiden anderen Gläsern die Milchsäurebestimmung nach Digestion im Vakuum, bzw. nach Digestion mit Sauerstoff vornimmt.

Die beiden letzten Reagenzgläser werden also zunächst beide evakuiert, und darauf füllt man eines von ihnen am Gasometer mit Sauerstoff. Dann setzt man diese beiden letzteren in das Wasser eines Thermostaten, in dem sie mittels einer Schüttelmaschine gleichmäßig bewegt werden. Nach zwei- bis dreistündiger Digestion bei 37° unterbricht man die Reaktion in den Gläsern, indem man ihren Inhalt mit 20 ccm einer 4,4 %igen Salzsäurelösung und 40 ccm einer gesättigten Sublimatlösung enteiweißt. Der Kontrollversuch wird immer schon zu Beginn der Digestion auf diese Art unterbrochen. Man läßt nun über Nacht im Eisschrank stehen, damit auch die letzten Eiweißreste ausflocken.

Zur Bestimmung der Milchsäure verfährt man nach der Bestimmungsmethode von Friedemann, Cotonio und Shaffer[6].

I. Versuch mit Muskel allein.
5 g Muskel,
25 ccm Phosphatpuffer (p H=7; m/15).

II. Versuch mit Waschsaft,
25 ccm Waschsaft.

III. Versuch mit Muskel und Waschsaft.
5 g Muskel,
25 ccm Waschsaft.
Man digeriert 3 Stunden bei 38°.

Tabelle 2

(mg Milchsäure).

I. Muskel			II. Waschsaft			III. Muskel u. Waschsaft		
direkt	digeriert		direkt	digeriert		direkt	digeriert	
	im Vakuum	mit Sauerstoff		im Vakuum	mit Sauerstoff		im Vakuum	mit Sauerstoff
11,0	15,0	17,6	19,1	30,0	30,0	31,0	50,0	37,9
10,0	25,5	25,5	21,0	43,4	42,2	25,9	85,0	46,0
8,4	14,4	13,2	26,5	47,6	44,5	33,6	61,2	31,2
8,6	25,7	25,4	26,8	55,4	55,4	33,3	84,2	43,7
7,9	19,2	19,2	26,4	56,2	55,2	33,6	76,7	39,6
7,2	18,7	18,5	20,8	50,2	48,0	31,2	73,2	33,6
—	—	—	—	—	—	28,8	85,0	35,6

Man erkennt, daß im Waschsaft ein Stoff vorhanden sein muß, der in Verbindung mit dem Muskel die Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff verursacht. Muskel und Waschsaft allein sind wirkungslos.

Bei weiteren Versuchen gelang es, den Waschsaft vom größten Teil seines Eiweißes zu befreien, ohne daß er dabei seine Wirkung verlor.

Man kühlt dabei Waschsaft und Azeton auf o° ab, und gibt dann zum Waschsaft sehr langsam soviel Azeton, daß auf 4 Teile Waschsaft 5 Teile Azeton kommen. Die Temperatur der Mischung darf dabei niemals über 5° steigen, weil man sonst unwirksame Säfte erhält. Die Mischung bleibt über Nacht im Eisschrank stehen, danach filtriert man in großen Faltenfiltern den dicken Eiweißniederschlag ab. Das Filtrat wird im Vakuum solange eingedampft, bis kein Azeton mehr in der Lösung nachzuweisen ist. Dabei trägt man Sorge, daß die Temperatur nie über 40° steigt. Die Restflüssigkeit nennt man Lösung A.

Bei den folgenden Versuchen ergaben sich zuerst Schwierigkeiten, die darin begründet waren, daß dem ausgewaschenen Muskel und auch der Lösung A der größte Teil ihrer Milchsäurequellen verloren gingen. Man setzt daher den Versuchen als Milchsäurequelle hexosediphosphorsaures Natrium oder wirkungsvoller „Muskelkochsaft" zu. Diesen stellt man aus gleichen Teilen Muskelbrei und Phosphatpuffer (p H = 7; m/15) her, die zusammen ca. 3—4 Minuten aufgekocht wer-

den; nach dem Erkalten verwendet man das Filtrat als Milchsäurequelle.

Die Versuche mit Lösung A hatten folgende Zusammensetzung:

I. Versuch mit Muskel, und Kochsaft.

5 g Muskel
25 ccm Phosphatpuffer (p H = 7; m/15).
20 ccm Kochsaft

II. Versuch mit Muskel, Kochsaft und Lösung A.

5 g Muskel.
25 ccm Lösung A.
20 ccm Kochsaft

Tabelle 3

(mg Milchsäure)

I. Muskel			II. Muskel und Lösung A		
direkt	digeriert		direkt	digeriert	
	im Vakuum	mit Sauerst.		im Vakuum	mit Sauerst.
16,0	29,0	27,9	15,0	33,4	22,2
20,4	28,8	28,2	35,2	45,0	32,1
13,5	27,2	26,2	31,2	49,7	40,5
—	—	—	37,5	46,6	33,4

Diese Versuche beweisen die Anwesenheit des gesuchten Stoffes in der vollständig enteiweißten Lösung A. Es konnte gezeigt werden, daß Lösung A auch nicht an Wirksamkeit verloren hatte, wenn man sie bis zu 10 Minuten auf 100° erhitzte.

Bei neueren Versuchen ergab sich zunächst die Säureresistenz des gesuchten Stoffes.

Dabei füllt man 80 ccm Lösung A mit 10 %iger Schwefelsäure auf 95 ccm auf. Nach 10 Minuten wird mit 10 %iger Natronlauge gegen Lackmus neutralisiert. Bei den folgenden Probeversuchen hatte die so behandelte Lösung A ihre volle Wirksamkeit behalten.

Die Ansätze hatten die gleiche Zusammensetzung wie die der Tabelle 3, nur wurde hier die Lösung A wie oben mit Schwefelsäure behandelt.

Tabelle 4

(mg Milchsäure)

I. Muskel			II. Muskel mit angesäuerter Lösung A.		
direkt	digeriert		direkt	digeriert	
	im Vakuum	mit Sauerst.		im Vakuum	mit Sauerst.
27,4	37,8	37,1	42,1	61,6	38,0
22,6	33,0	32,0	38,0	53,2	35,0
17,9	28,2	28,0	32,4	56,0	41,9

Dann versuchte man durch Dialyse die Lösung A von anderen Beimengungen als dem gesuchten Stoff zu befreien.

Mann füllt dabei 100 ccm Lösung A in einen Zellophanschlauch und hängt diesen in einen Stutzen, der mit Wasser gefüllt ist. Bei der Überprüfung ergab sich, daß die so behandelte Lösung A vollständig ihre Wirksamkeit verloren hatte. Dies beweist die Dialysierbarkeit des für die Hemmung der Milchsäurebildung verantwortlichen Stoffes, d. h. seine Teilchengröße in Lösungen ist wahrscheinlich kleiner als 1 μμ.

Aus der Lösung A ließen sich auch im Soxlethschen Apparat mit Äther oder Chloroform keine Stoffe extrahieren.

Dann aber brachte folgende Versuchsanordnung, die die Reindarstellung des gesuchten Stoffes bezweckte, einen Schritt weiter.

Man setzt der Lösung A solche löslichen Metallsalze zu, die unlösliche Metallphosphatverbindungen ergeben. Mit Liquor plumbi subazetici und mit Bariumazetat gelingt es, die Phosphate der Lösung A, die zum größeren Teil aus der Pufferlösung stammen, — es wurde Phosphatpuffer nach Soerensen verwandt, (3,6 g Kaliumphosphat + 7,2 g Natriumphosphat in 1 Liter Wasser) — auszufällen.

Bei der Bleifällung gibt man zu 150 ccm Lösung A ca. 100 ccm Liquor plumbi subazetici. Es entsteht ein dicker Niederschlag von Bleiphosphat. Man zentrifugiert das Gemenge und untersucht zunächst die überstehende klare Flüssigkeit, die mit Muskel zusammen keine Hemmung der Milchsäurebildung mehr macht. Der Zentrifugenrückstand, in dem sich der gesuchte Stoff also noch befinden muß, wird dreimal mit Phosphatpuffer (p H = 7; m/15) aufgeschlämmt und dann mit Wasser im Meßzylinder bis zur Marke 100 aufge-

füllt. Aus dem Kipp'schen Apparat leitet man darauf unter dauernden Umschütteln Schwefelwasserstoff in die Aufschlämmung ein und zwar ungefähr ¼ Stunde lang. Über Nacht läßt man stehen, damit die Bleifällung vollständig wird. Am anderen Morgen filtriert man vom ausgefallenen Bleisulfid ab und dampft das klare Filtrat im Vakuum bei 40° solange ein, bis in einer kleinen Probe kein Schwefelwasserstoff mehr mit Bleiazetat nachzuweisen ist.

Aber auch die so erhaltene Lösung erwies sich bei der Prüfung mit Muskel zusammen als wirkungslos. Es besteht die Möglichkeit, daß der Schwefelwasserstoff eine hemmende oder zerstörende Einwirkung auf den gesuchten Stoff hat.

Die Fällung mit Bariumazetat brachte dagegen ein brauchbares Ergebnis.

Man versetzt 500 ccm Lösung A mit ca. 150 ccm einer kaltgesättigten Bariumazetatlösung. Dabei entsteht ein voluminöser Niederschlag von Bariumphosphat, den man auf der Nutsche unter scharfem Absaugen mit der Wasserstrahlpumpe abpreßt. Im Filtrat befinden sich hauptsächlich das Kreatin und fast die gesamte Milchsäure der Lösung A.

Das Filtrat ergibt auch hier bei Versuchen mit Muskel zusammen keine Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff mehr. D. h. der für die Hemmung verantwortliche Stoff muß also, wenn er durch die Fällung nicht zerstört wird, entweder als unlösliches Bariumsalz oder an die Bariumphosphate adsorbiert im Nutschenrückstand sein.

Diesen Nutschenrückstand wäscht man nun zunächst noch zweimal auf der Nutsche mit Wasser aus, um auch die letzten Reste der Milchsäure zu entfernen. Den feuchten übrigbleibenden Brei trocknet man im Exsikkator über konzentrierter Schwefelsäure. Nach zwei bis drei Tagen erhält man eine vollständig trockene, graugrünliche, bröcklige Masse, die sich im Mörser sehr leicht zu einem feinen Pulver verreiben läßt.

Zu den Versuchen muß man das Pulver wieder vom Barium befreien. Zu jeder Versuchsserie nimmt man ca. 7 g des Pulvers, die ungefähr 200 ccm Lösung A entsprechen, gibt wenig Wasser hinzu und verreibt das Gemenge im Mörser zu einem dünnflüssigen Brei. Jetzt gibt man langsam, tropfenweise so viel 10%ige Schwefelsäure zu der Suspension, bis man in einem kleinen Probefiltrat keine weiteren Bariumionen mehr

mit Schwefelsäure nachweisen kann. Das stark kongosaure Gemenge neutralisiert man jetzt sofort wieder mit 10 % Natronlauge gegen Lackmus, unter gleichzeitiger Kühlung durch kleine Eisstücke. Der dicke Bariumsulfatniederschlag setzt sich auf der Zentrifuge leicht ab, und die überstehende klare Lösung, Lösung B genannt, wird, nachdem man sie mit Wasser auf 80 ccm aufgefüllt hat, zu den Versuchen verwandt.

Die Versuche mit Muskel allein hatten die gleiche Zusammensetzung, wie die der Tabelle 2. Die Ansätze mit Muskel und Lösung B waren:

5 g Muskel
25 ccm Lösung B
20 ccm Kochsaft

Tabelle 5

(mg Milchsäure)

I. Muskel			II. Muskel mit Lösung B		
direkt	digeriert		direkt	digeriert	
	im Vakuum	mit Sauerst.		im Vakuum	mit Sauerst.
19,4	45,9	37,8	25,2	59,5	29,7
46,9	61,5	61,5	61,5	94,0	76,5
26,3	52,2	50,5	34,4	68,5	41,0
35,6	40,0	41,7	44,1+	89,1+	52,2+
25,2	41,5	38,6	27,4+	63,0+	36,6+

Hier hat man den Beweis, daß Lösung B den gesuchten Stoff noch enthält. Bei den beiden letzten Versuchen + unter II ging man zur Herstellung der Lösung B von einem Bariumpulver aus, das mindestens 6 Wochen lang im evakuierten Exsikkator über Schwefelsäure gestanden hatte, und dadurch nicht im geringsten an Wirksamkeit eingebüßt hatte, d. h. im „Bariumsalz" hat man den für die Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff verantwortlichen Stoff in haltbarer Form vorrätig.

Weiterhin erkennt man aus den obigen Versuchen der Tabelle 5, wie gering der Milchsäuregehalt der Lösung B ist, wenn man die direkten Versuche mit und ohne Lösung B vergleicht. Sehr bemerkenswert ist ferner, daß Lösung B auch noch das milchsäurebildende Ferment enthält, weil die Vermehrung der Milchsäure im Vakuumversuch bei Zusatz von

Lösung B immer größer ist, als im Kontrollansatz ohne Lösung B.

Bei der Prüfung ergab Lösung B immer stark positive Orcin- und Resorcinreaktion auf Pentosen. Dies legte den Gedanken nahe, daß die Hemmung der Milchsäurebildung durch Sauerstoff irgendwie von den Pentosen des Muskels abhinge. Ein Probeversuch mit 5 g Muskel und 25 ccm Pufferlösung (p H = 7; m/15), der man 20 ccm 1 %ige Lösung von adenylsaurem Natrium zusetzte, war jedoch negativ.

Bei der Verarbeitung des „Bariumsalzes" zur Lösung B gingen natürlich die gesamten Phosphate sowohl die der Pufferlösung, als auch die des Muskels mit in Lösung B. Die Entfernung der Phosphate bereitete große Schwierigkeiten. Es gelang zwar mit Magnesiamixtur alle Phosphate auszufällen, danach hatte die Restflüssigkeit jede Wirkung auf den Muskel verloren.

Um wenigstens den größten Teil dieser Phosphate auszuschließen, begann man jetzt von vorne und nahm statt Pufferlösung (p H = 7; m/15) physiologische 0,9 %ige Kochsalzlösung zur Bereitung der Lösung A.

Der Muskelbrei wurde also mit der gleichen Gewichtsmenge physiologischer Kochsalzlösung geschüttelt. Der abfiltrierte Waschsaft war ebenso brauchbar, wie der Waschsaft aus Phosphatpuffer, wie die folgenden Versuche beweisen.

Man nahm:

I. 5 g „Salz"muskel,
25 ccm Puffer (p H = 7; m/15),
20 ccm Kochsaft.

II. 5 g „Salz"muskel,
25 ccm „Salz"waschsaft,
20 ccm Kochsaft.

Tabelle 6
(mg Milchsäure)

I. Salzmuskel			II. Salzmuskel u. Salzwaschsaft		
direkt	digeriert		direkt	digeriert	
	im Vakuum	mit Sauerst.		im Vakuum	mit Sauerst.
8,1	14,9	13,4	34,8	63,2	36,7
11,3	20,5	19,8	40,6	79,1	51,3
7,0	23,2	23,1	28,2	42,4	30,1

Dieser Salzwaschsaft läßt sich genau wie anfangs beschrieben durch Azeton von seinem Eiweiß befreien, indem man 5 Teile Azeton auf 4 Teile Salzwaschsaft gibt. Das klare Filtrat dieser Fällung nennt man Lösung C.

Die folgenden Versuche hatten die gleiche Zusammensetzung wie die der Tabelle 3, nur nahm man statt Lösung A jetzt Lösung C.

Tabelle 7

(mg Milchsäure)

I. Muskel			II. Muskel und Lösung C		
direkt	digeriert		direkt	digeriert	
	im Vakuum	mit Sauerst.		im Vakuum	mit Sauerst.
20,9 19,1	33,2 30,2	35,0 31,7	159,5 54,2	204,5 65,0	152,1 56,5

Aus obigen Ergebnissen erkennt man, daß auch Lösung C den Stoff enthält, der mit Muskel zusammen die Hemmung der Milchsäurebildung verursacht.

Bei der Weiterbehandlung der Lösung C mit Bariumazetat, um genau wie aus Lösung B ein Bariumpulver herzustellen, entstanden neue Schwierigkeiten.

Gibt man nämlich kalt gesättigte Bariumazetatlösung zur Lösung C, so entsteht natürlich nur ein ganz geringer Niederschlag von Bariumphosphat. Hier können nur die Phosphate, die aus dem Muskel ausgewaschen werden, als unlösliche Bariumverbindung ausfallen. Behandelt man nun diesen Niederschlag genau so wie das Bariumsalz aus Lösung A, so stellt sich heraus, daß in diesem Falle der gesuchte Stoff nicht mehr nachzuweisen ist. Diese Tatsache beweist, daß der unbekannte Stoff kein unlösliches Bariumsalz bildet, sondern wahrscheinlicher an die Bariumphosphate adsorbiert wird. In Lösung C ist nicht genügend von dem Adsorbens vorhanden.

Aus dieser Erkenntnis heraus versuchte man nun den gesuchten Stoff direkt von seinem Adsorbens im Bariumsalz zu trennen.

Dabei schüttelt man je 5 g Bariumsalz aus Lösung A mit 50 ccm Wasser, dem man durch Laugen- bzw. Säurezusatz bei 4 Versuchen eine verschiedene Wasserstoffionenkonzentration gegeben hat.

Man schüttelt bei p H = 9; p H = 7,6; p H = 6,2 und p H = 2 jedesmal ½ Stunde. Danach filtriert man vom Ba-

riumsalz ab und neutralisiert die 4 Filtrate gegen Lackmus. Sie erweisen sich bei der Prüfung als wirkungslos.

Aus der Erkenntnis, daß der gesuchte Stoff adsorbierbar ist, nahm man die folgenden Versuche, bei denen man aus Lösung B mit Aluminiumgel nach Willstätter den unbekannten Stoff eluieren wollte.

Man gibt dabei zu 150 ccm Lösung B 250 ccm Aluminiumgel, säuert mit 100 ccm einer m/12 Lösung von primären Kaliumphosphat und ca. 8 ccm 25 %iger Phosphorsäure an, bis die Lösung p H = 6—6,2 hat. Darauf schüttelt man das Gemenge ½ Stunde auf der Schüttelmaschine und preßt es dann auf der Nutsche scharf ab. Das klare Filtrat, Lösung D genannt, wird bei 40° im Vakuum auf ca. 80 ccm eingeengt. Den Nutschenrückstand schlämmt man mit 500 ccm einer m/12 Lösung von sekundärem Natriumphosphat bei p H = 7,2 bis 7,4 auf, schüttelt die Mischung 3 Stunden und filtriert dann ab; das Filtrat heißt Lösung E.

Zu den folgenden Versuchen neutralisiert man Lösung D und Lösung E gegen Lackmus mit 10 %iger Natronlauge bzw. mit 10 %iger Schwefelsäure.

Die Versuche mit Muskel allein hatten die Zusammensetzung der Tabelle 2. Die anderen Ansätze waren folgende:

II. Versuche mit Muskel und Lösung D.

5 g Phosphatmuskel,
25 ccm Lösung D,
20 ccm Kochsaft.

III. Versuche mit Muskel und Lösung E.

5 g Phosphatmuskel,
25 ccm Lösung E,
20 ccm Kochsaft.

Tabelle 8
(mg Milchsäure)

I. Muskel			II. Muskel u. Lösung D			III. Muskel u. Lösung E		
direkt	digeriert		direkt	digeriert		direkt	digeriert	
	im Vakuum	mit Sauerstoff		m Vakuum	mit Sauerstoff		im Vakuum	mit Sauerstoff
10,2	28,4	27,2	16,3	40 2	42,2	14,8	13,0	11,0
12,4	32,1	30,9	13,5	4 58	43,9	15,1	14,7	14,0

Das Ergebnis dieser Versuche ist aus folgenden Gründen unbrauchbar.

In Lösung E ist offensichtlich kein milchsäurebildendes Ferment vorhanden, daher ist aus diesen Versuchen, obwohl sie negativ ausgefallen sind, nicht zu erkennen, ob nicht doch der gesuchte Stoff in Lösung E enthalten ist. Das milchsäurebildende Ferment ist vollständig in Lösung D vorhanden. Ein Nebenbefund, der sehr bemerkenswert ist und einen Weg weist, wie man das milchsäurebildende Ferment des Muskels gewinnen kann.

Zusammenfassung.

Es gelang, den für die Hemmung der Milchsäurebildung verantwortlichen Stoff an Bariumphosphat adsorbiert, haltbar zu gewinnen.

Es konnte weiter gezeigt werden, daß dieser Stoff säureresistent und dialysierbar ist.

Außerdem wurde festgestellt, daß man bei der Behandlung des Muskelbreies mit 0,9 %iger physiologischer Kochsalzlösung diesen Stoff ebenso auswaschen kann, wie bei der Behandlung mit Phosphatpuffer (p H = 7; m/15).

Es wurde eine Möglichkeit gefunden, wie man das milchsäurebildende Ferment von dem Stoff, der die Milchsäurebildung hemmt, trennen kann.

Literatur.

1. Embden und Mitarbeiter: BZ. 1912, 45 und 63.
2. Meyerhof: Die chemischen Vorgänge im Muskelstoffwechsel.
3. Hahn, Fischbach und Niemer: Z. für Biol. 1930, Bd. 91, Heft 1.
4. Hahn, Belmont und Niemer: Z. für Biol. 1931, Band 91, Heft 6.
5. Hahn und Niemer: Z. für Biol. 1936, Band 97, Heft 2.
6. Friedemann, Cotonio und Shaffer: Inl. Biol. chem., 73, 1927, 334 und 359.

Lebenslauf.

Am 13. April 1912 wurde ich als Sohn des Justizobersekretärs Hubert Heiting und seiner Ehefrau Konstanze, geb. Harck zu Grevenbroich geboren. Ostern 1918 kam ich auf die Volksschule in Grevenbroich. Von 1922 — 1929 besuchte ich das Progymnasium in meiner Heimatstadt. Dann kam ich auf das Reformrealgymnasium in Neuß, wo ich Ostern 1931 die Reifeprüfung bestand. Ich studierte Medizin in Bonn, Freiburg i. Br., Königsberg und München. Am 29. 6. 37. bestand ich in München das medizinische Staatsexamen.

Für die Überlassung der Arbeit und für seine Unterstützung sage ich Herrn Professor Hahn meinen besonderen Dank. Ebenso danke ich Herrn Dr. Niemer für seine Hilfe.